

## 審査の結果の要旨

氏名 西澤友宏

涙や、脳脊髄液、唾液、胃酸などの水分泌は、生体の保護、食物消化といった生体が生命を維持していくのに必要不可欠な役割を果たしている。これら水分泌は積極的に行われている一方で、恒常性の維持という点から厳密に調節されている。水分泌はイオンチャネルなどによって細胞内外に形成される局所的な浸透圧差に従い aquaporin を中心とする水チャネルを介して水が流れることによりおこる。現在、aquaporin を中心とする水チャネルについては分子生物学的手法の進歩により多くの知見が得られている。一方で水分泌の調節に関与しているイオンチャネルにおいては、その実体に関する議論が混沌としており、特に陰イオンチャネルについては、特異的な薬理学的ツールが存在しないことから解析が進んでおらず、創薬のターゲットとしても未開拓状態である。

本研究は胃酸分泌時にリン酸化された状態で分泌側膜に存在しているタンパク質 (parchorin と命名) に着目して行われたものである。parchorin は胃壁細胞や脈絡叢など水分泌を起こす組織に発現していること、胃壁細胞においては、多くが細胞質可溶性分画に存在し、胃酸分泌時にその一部が分泌側膜に移行することが修士課程の研究で明らかになっており、水分泌への関与が示唆されていた。本研究は parchorin のさらに詳細な分布様式、cDNA クローニング、機能解析を行い、水分泌調節機構における parchorin の機能的役割を分子レベルで詳細に解析したものである。以下に本研究によって得られた主要な知見をまとめる。

### 1. parchorin の cDNA クローニング及び機能解析

parchoirn は胃酸を分泌する胃底腺や脳脊髄液を分泌する脈絡叢、唾液腺などの水分泌組織において水分泌を起こす細胞特異的に存在しており、このことにより水分泌細胞全般に特異的に存在するタンパク質の存在が初めて明らかになった。また、cDNA クローニングの

結果、parchorin は新規タンパク質であり、C 末端側約 1/3 の領域が細胞内小胞のクロライドチャンネルである chloride intracellular channel (CLIC) ファミリーと高い相同性があった。parchorin 以外の CLIC ファミリーのタンパク質はユビキタスに存在し、細胞内の小胞に存在している。一方で parchorin は胃酸分泌刺激時に一部が細胞質可溶性分画から分泌側膜に移行することが明らかになっていることから、CLIC ファミリーの中で初めて移行が示されたタンパク質であった。また本研究ではこの移行が細胞外溶液の  $\text{Cl}^-$  を除去することにより起こることを培養細胞系で明らかにし、parchorin の移行が水分分泌時に起こる細胞内外の局所的な浸透圧差に起因する可能性を示唆した。さらに、CLIC ファミリーとの相同性から parchorin が細胞のクロライド放出活性を増強することも明らかにした。これらのことは parchorin が水分分泌時に細胞膜に移行し、水分分泌に必要なクロライドの放出を増強することで水分分泌を促進している可能性を示唆するものである。

## 2. parchorin 特有の N 末端領域の性質及び parchorin をリン酸化する kinase の性質の検討

本研究では CLIC ファミリーのタンパク質とは異なった parchorin の性質が parchorin に特徴的な N 末端 2/3 の領域に起因していると考え、この領域に着目して研究を行っている。parchorin は胃底腺内で複合体を形成し、この複合体は N 末端側の領域を介して形成されている可能性が示唆された。また、parchorin は胃底腺内でよくリン酸化されており、このリン酸化は N 末端側の領域で起きることや、リン酸化する kinase が胃底腺内で parchorin と結合していることも本研究で明らかした。また、kinase の性質なども薬理的に検討した。これらのことは水分分泌機構における parchorin を介した情報伝達の解析を展開するのに十分な基盤を築いている。

本研究は水分分泌調節に関与するタンパク質の存在を初めて示唆するとともに、生理学に水分分泌という新しい分野を開拓した先駆的なもので、博士（薬学）の学位を授与するに値するものと認めた。